

懐死生臍帯炎の動物実験モデル作成ならびに新生仔肺障害への影響の解析

著者	渡邊 達也
号	77
学位授与番号	3416
URL	http://hdl.handle.net/10097/45827

氏 名（本籍） ^{わたな}渡 ^べ邊 ^{たつ}達 ^や也

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 3 4 1 6 号

学位授与年月日 平 成 20 年 2 月 27 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 2 項該当

最 終 学 歴 平 成 8 年 3 月
東北大学医学部医学科 卒業

学 位 論 文 題 目 壊死性臍帯炎の動物実験モデル作成ならびに新生
仔肺障害への影響の解析

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教授 土 屋 滋 教授 岡 村 州 博

教授 笠 井 憲 雪

論文内容要旨

背景

子宮内炎症は早産や前期破水の原因となるばかりではなく、早産極低出生体重児の重篤な合併症である慢性肺疾患（以下 CLD）の発症と独立して関連することが報告されている。壊死性臍帯炎（以下 NF）は強い持続性の炎症を特徴とする子宮内炎症である。病理組織学的には臍帯血管周囲のワルトンゼリー内に胎児由来の多核白血球（以下 PMNL）が多量に遊走浸潤し円環状の壊死巣が観察される。松田らは NF が CLD の発症と重症化に関連する可能性を報告し、その発症メカニズムとして胎児循環中に多量に増加した PMNL が羊水中の催炎症物質によって臍帯血管外に遊走しワルトンゼリー内に持続性の炎症を起こす病態が強く示唆された。

本研究の目的は、早産ヒツジ胎仔の慢性実験系を用いて、胎仔血中の PMNL を増加させさらに活性化することによって NF の動物実験モデルを作成し、出生した新生仔の肺病理組織像を検討することである。

対象と方法

対象は妊娠期間が確定している満期 147 日の Suffolk 種ヒツジ胎仔 16 頭である。

妊娠 123 日に母獣胎仔へ前処置を行い、妊娠 125 日に対象をランダムに以下の 4 群に分けた。すなわち、妊娠 125–129 日に連日顆粒球コロニー刺激因子（以下 GCSF） $50\mu\text{g}$ を胎仔に静注した群（GCSF 群、 $n=4$ ）、妊娠 127 日に 20mg のリポポリサッカライド（以下 LPS）を羊水腔内に投与した群（LPS 群、 $n=4$ ）、同様に GCSF と LPS をあわせて投与した群（GCSF/LPS 群、 $n=4$ ）、GCSF ならびに LPS と同じタイミングでそれぞれ同量の生理食塩水を投与した群（対照群、 $n=4$ ）である。妊娠 130 日に胎仔を娩出させ、臍帯、卵膜を 10% 中性ホルマリン緩衝液で固定して病理組織学的検索に供し、臍帯炎、卵膜炎の程度を定量的に評価した。出生したヒツジ新生仔は 10 日間の集中治療を行った後、肺を灌流固定し病理組織学的検討ならびに定量的モルフォメトリー解析を行った。

結果

GCSF/LPS 群では妊娠 127 日の LPS 投与後、一過性に PMNL 数の著しい減少がみられその後再び出生時まで上昇した（ $p<0.05$ ）。GCSF 群は投与開始から出生時まで多核好中球数が持続的に増加し、対照群および LPS 群では有意な変動はみられなかった。出生時の血中 PMNL 数を 4 群間で比較したところ、GCSF/LPS 群および GCSF 群は LPS 群および対照群と比べて有意に多かった（ $p<0.05$ ）。

臍帯の炎症スコアでは、GCSF/LPS 群は対照群、GCSF 群、LPS 群と比較して有意に高値であった ($p<0.05$)。病理組織学的臍帯炎は GCSF/LPS 群と LPS 群にみられたが、NF は前者でのみ観察された。

新生仔ヒツジ肺組織では GCSF/LPS 群でのみ肺胞性肺気腫が認められ、定量的モルフォメトリ解析によって肺胞化の著しい停滞が証明された。

結 論

本研究では、胎仔に GCSF を投与して胎児 PMNL 数を増加させた後に羊水腔内へ LPS を投与し活性化することによって、全ての胎仔臍帯に NF を誘導できた。LPS の羊水腔内単独投与では、臍帯炎は誘導されたが NF は 1 例も観察されなかった。したがって、NF 発症には胎仔血中 PMNL 数の増加と羊水中の催炎症物質による PMNL 活性化の 2 つが本質的に重要であると結論できた。また、ヒツジ新生仔肺病理組織像の比較では GCSF/LPS 群でのみ肺胞性肺気腫ならびに肺胞化の停滞が観察され、NF が CLD の早期発症に関与している可能性が示唆された。

審査結果の要旨

子宮内炎症は、胎児にさまざまな影響を与え、結果として分娩後の乳幼児の成育にも大きな影響を落とすと考えられている。しかし、子宮内炎症の動物モデルが存在しなかったために、子宮内炎症が胎児に与える影響を詳細に解析することができなかった。本研究は、早産ヒツジ胎仔に GCSF を投与することにより壊死性臍帯血炎 (NF) が起きるという実験事実を基礎に、さらに催炎症物質を使用することにより子宮に広範な慢性炎症を惹起し、その炎症が早産ヒツジ胎仔にどのような影響を与えたかを検索した研究である。

子宮内炎症は早産や前期破水の原因となるばかりではなく、早産極低出生体重児の重篤な合併症である慢性肺疾患 (以下 CLD) の発症と独立して関連する。NF の組織像は、臍帯血管周囲のワルトンゼリー内に胎児由来の多核白血球 (以下 PMNL) が多量に遊走浸潤し円環状の壊死巣として観察される。

本研究では、この早産ヒツジ胎仔の慢性実験系を用いて、出生した新生仔の肺病理組織像を検討し、子宮内炎症が CLD に与える影響を検討した。

対象は妊娠期間が確定している満期 147 日の Suffolk 種ヒツジ胎仔 16 頭である。妊娠 123 日に母獣胎仔へ前処置を行い、妊娠 125 日に対象をランダムに以下の 4 群に分けた。すなわち、妊娠 125-129 日に連日顆粒球コロニー刺激因子 (以下 GCSF) $50\mu\text{g}$ を胎仔に静注した群 (GCSF 群, $n=4$)、妊娠 127 日に 20mg のリポポリサッカライド (以下 LPS) を羊水腔内に投与した群 (LPS 群, $n=4$)、同様に GCSF と LPS をあわせて投与した群 (GCSF/LPS 群, $n=4$)、GCSF ならびに LPS と同じタイミングでそれぞれ同量の生理食塩水を投与した群 (対照群, $n=4$) である。妊娠 130 日に胎仔を娩出させ、臍帯、卵膜を 10% 中性ホルマリン緩衝液で固定して病理組織学的検索を行った。出生したヒツジ新生仔は 10 日間の集中治療を行った後、肺を灌流固定し病理組織学的検討ならびに定量的モルフォメトリー解析を行った。

出生時の血中 PMNL 数を 4 群間で比較したところ、GCSF/LPS 群および GCSF 群は LPS 群および対照群と比べて有意に多かった ($p<0.05$)。臍帯の炎症スコアでは、GCSF/LPS 群は対照群、GCSF 群、LPS 群と比較して有意に高値であった ($p<0.05$)。病理組織学的臍帯炎は GCSF/LPS 群と LPS 群にみられたが、NF は前者でのみ観察された。新生仔ヒツジ肺組織では GCSF/LPS 群でのみ肺胞性肺気腫が認められ、定量的モルフォメトリー解析によって肺胞化の著しい停滞が証明された。

以上のことから、胎仔に GCSF を投与して胎児 PMNL 数を増加させた後に羊水腔内へ LPS を投与し活性化することによって、全ての胎仔臍帯に NF を誘導できた。LPS の羊水腔内単独投与では、臍帯炎は誘導されたが NF は 1 例も観察されなかったことから、NF 発症には胎仔血中 PMNL 数の増加と羊水中の催炎症物質による PMNL 活性化の 2 つが本質的に重要であると結論できた。また、ヒツジ新生仔肺病理組織像の比較では GCSF/LPS 群でのみ肺胞性肺気腫ならびに肺胞化の停滞が観察され、NF が CLD の早期発症に関与している可能性が示唆された。

よって、本論文は博士 (医学) の学位論文として合格と認める。